

F

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-40690

(43)公開日 平成9年(1997)2月10日

(51)Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 J 71/00			C 0 7 J 71/00	
A 6 1 K 31/70	ABC		A 6 1 K 31/70	ABC
	ADU			ADU
// A 6 1 K 35/78			35/78	V

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 10 頁)

(21)出願番号	特願平8-107254	(71)出願人	595072952 指田 豊 東京都八王子市南陽台3-20-7
(22)出願日	平成8年(1996)4月26日	(71)出願人	595072963 岡 希太郎 東京都大田区東矢口3丁目19番8号
(31)優先権主張番号	特願平7-123759	(71)出願人	000113470 ポーラ化成工業株式会社 静岡県静岡市弥生町6番48号
(32)優先日	平7(1995)5月23日	(72)発明者	指田 豊 東京都八王子市南陽台3-20-7
(33)優先権主張国	日本 (J P)	(74)代理人	弁理士 有賀 三幸 (外3名)
(31)優先権主張番号	特願平7-123760		
(32)優先日	平7(1995)5月23日		
(33)優先権主張国	日本 (J P)		

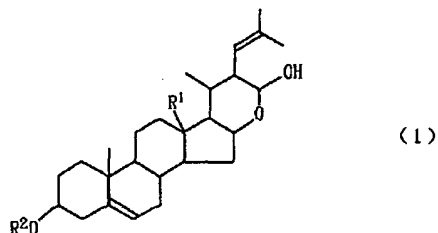
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ステロイド配糖体及びこれを有効成分とする医薬

(57)【要約】

【解決手段】 次の一般式(1)

【化1】



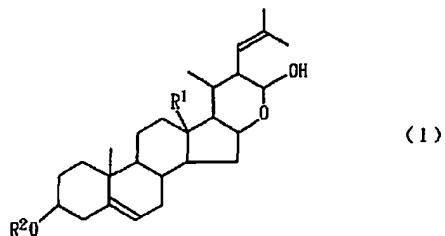
(式中、R¹ はアルデヒド基又は低鎖長ヒドロキシアリル基を示し、R² はアシル基を有していてもよい糖残基を示す。)で表わされるステロイド配糖体及びこれを有効成分とする医薬。

【効果】 本発明のステロイド配糖体は、安全性が高く、優れた抗癌作用及び免疫抑制作用を示す。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の一般式(1)

【化1】

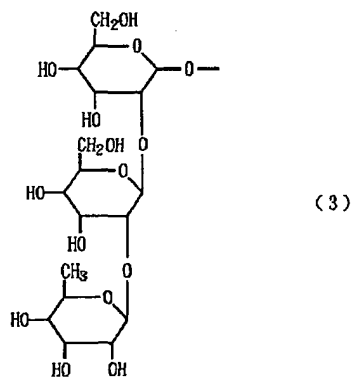
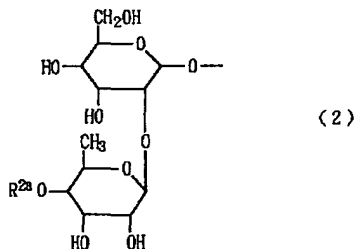


(式中、 R^1 はホルミル基又は低鎖長ヒドロキシアルキル基を示し、 R^2 はアシル基を有していてもよい糖残基を示す。) で表わされるステロイド配糖体。

【請求項2】 一般式(1)中、 R^1 がホルミル基又はヒドロキシメチル基であり、 R^2 がアシル基を有していてもよい二糖残基又は三糖残基である請求項1記載のステロイド配糖体。

【請求項3】 一般式(1)中、 R^1 がホルミル基又はヒドロキシメチル基であり、 R^2 が次式(2)又は

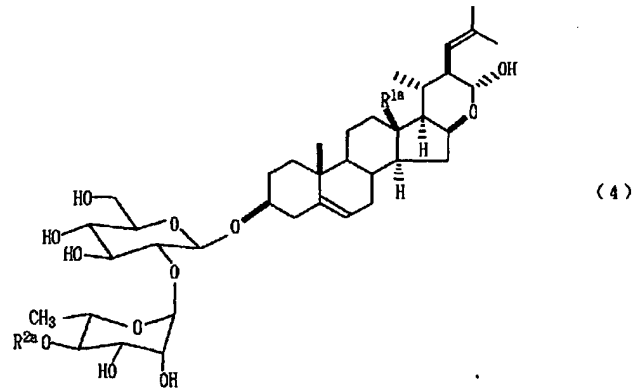
【化2】



(式中、 R^{2a} は水素原子、 p -ヒドロキシベンゾイル基又は p -メトキシベンゾイル基を示す。) である請求項1記載のステロイド配糖体。

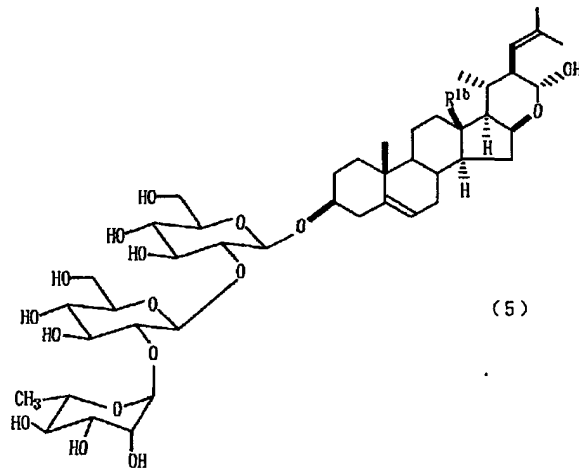
【請求項4】 次の一般式(4)

【化3】



(式中、 R^{1a} はホルミル基又はヒドロキシメチル基を示し、 R^{2a} は水素原子、p-ヒドロキシベンゾイル基又は

p-メトキシベンゾイル基を示す。)又は一般式(5)【化4】



(式中、 R^{1b} はホルミル基又はヒドロキシメチル基を示す。)で表わされる化合物である請求項1記載のステロイド配糖体。

【請求項5】 請求項1～4のいずれかの項記載のステロイド配糖体を有効成分とする医薬。

【請求項6】 抗癌剤である請求項5記載の医薬。

【請求項7】 免疫抑制剤である請求項5記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ステロイド配糖体及びこれを有効成分とする医薬に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】現代において各種の医薬品の発明は、古来より人類の脅威であった種々の感染症を駆逐した。しかしこれに代わって、循環器疾患や癌が人類の大きな脅威になっている。このうち癌は、現在に至っても尚完全な治療法は存在せず、死亡原因でもトップの座を保持しており、人類にとって解決すべき最優先課題となっている。

【0003】従来、癌の治療は大きく分けて、外科的手術、抗癌剤による化学療法、放射線による放射線療法の3つに分けられる。このうち、外科的手術は初期の癌には有効であるが、転移を伴った癌に対しては効力が限られたものになってしまうことが多い。また、放射線療法は浅部の癌には有効であるが、深部の癌には効力は一つである。更に、放射線による正常な部位への障害は無視できず、放射線によって癌が誘起されることがあり、無条件に癌治療に用いることは出来ない。一方、抗癌剤による癌治療は抗癌剤の毒性が強いことが原因で、極めて限られたものになっている。また、癌の抗癌剤に対する耐性も無視の出来ない大きな課題である。この様な状況から新規の抗癌剤の登場が期待されている。

【0004】また、現代において臓器移植は医薬品で治療できない疾患例えば、肝臓の不全、腎臓の不全、心臓の不全、白血病等の治療のための切り札的存在である。特に近年になって臓器移植が盛んに行われるようになってきた要因の一つに免疫抑制剤の使用により、移植直後の被移植者の生体拒絶反応のコントロールが可能になっ

てきたことが挙げられる。しかしながら、これまでに用いられているサイクロスポリンやシクロホスファミド等の免疫抑制剤は、いずれも安全で、かつ十分な効果を発現するものではなく、その使用には危険が伴い、ただでさえ体力の落ちた臓器の不全を呈している患者に投与するのには困難が伴う。そこで、新規の免疫抑制剤の登場が期待されている。

【0005】従って、本発明は、安全性に優れ、強い抗癌作用及び高い免疫抑制作用を示す新規化合物を提供することを目的とする。

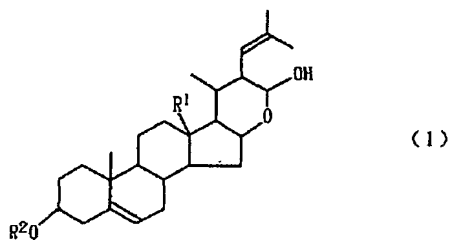
【0006】

【課題を解決するための手段】かかる実情において、本発明者らは鋭意検討を行った結果、ユリ科又はその近縁の植物体を溶剤抽出及び精製すると新規のステロイド配糖体が得られ、当該新規化合物は安全で、強い抗癌作用及び高い免疫抑制作用を示し、医薬として有用であることを見出し本発明を完成した。

【0007】すなわち、本発明は、次の一般式(1)

【0008】

【化5】



【0009】(式中、R¹ はホルミル基又は低鎖長ヒドロキシアルキル基を示し、R² はアシル基を有していてもよい糖残基を示す。)で表わされるステロイド配糖体及びこれを有効成分とする医薬を提供するものである。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明の一般式(1)のステロイド配糖体は新規化合物である。一般式(1)のR¹ はホルミル基又は低鎖長ヒドロキシアルキル基であれば特に制限されないが、低鎖長ヒドロキシアルキル基の好ましいものとしては、炭素数1~4のヒドロキシアルキル基が挙げられ、特に好ましいものとしてはヒドロキシメチ

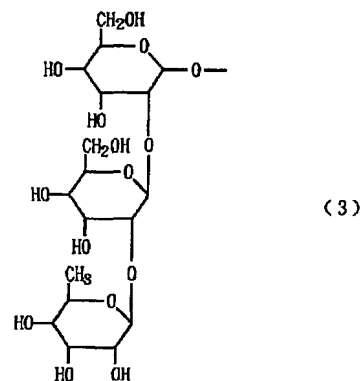
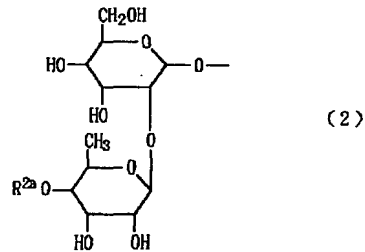
ル基が挙げられる。

【0011】R² はアシル基を有していてもよい糖残基であれば特に制限されないが、アシル基を有していてもよい二糖又は三糖の残基が好ましい。また、当該アシル基としてはp-ヒドロキシベンゾイル基又はp-メトキシベンゾイル基が好ましい。

【0012】より好ましいR² としては次式(2)又は(3)で示される糖残基が挙げられる。

【0013】

【化6】

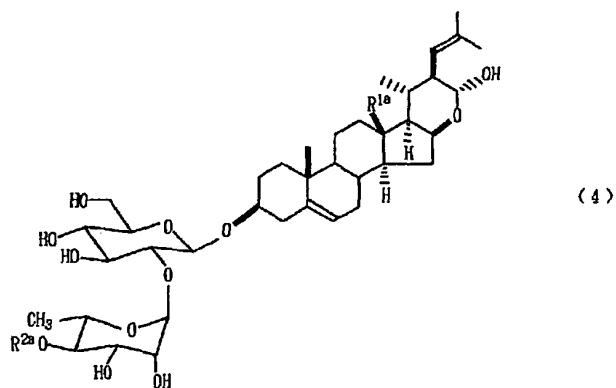


【0014】(式中、R^{2a}は水素原子、p-ヒドロキシベンゾイル基又はp-メトキシベンゾイル基を示す。)

【0015】本発明化合物(1)のより好ましいものとしては、下記一般式(4)及び(5)で表わされる化合物が挙げられる。

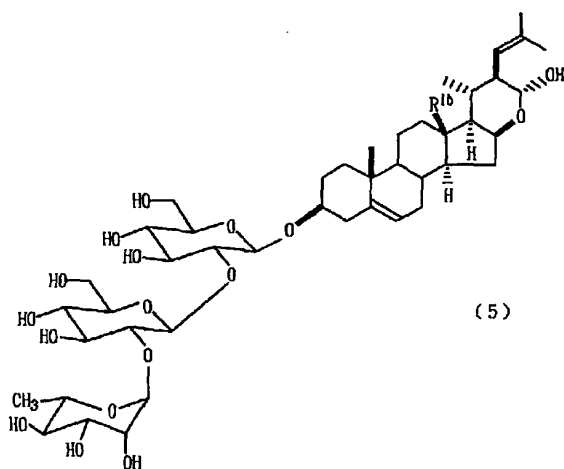
【0016】

【化7】



【0017】(式中、R^{1a}はホルミル基又はヒドロキシメチル基を示し、R^{2a}は水素原子、p-ヒドロキシベンゾイル基又はp-メトキシベンゾイル基を示す。)

【0018】
【化8】



【0019】(式中、R^{1b}はホルミル基又はヒドロキシメチル基を示す。)

【0020】本発明化合物(1)のうち特に好ましい化

合物を下表に示す。

【0021】

【表1】

一般式(4)	化合物A	R ^{1a} :ホルミル基 R ^{2a} :水素原子	O-6-デオキシ- α -L-マンノ ピラノシル-(1fwdarw2)- β -D- グルコピラノシルオキシ-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エポキシ -23-ヒドロキシ-22-(2-メチ ル-1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-18-アール-3- イル
	化合物B	R ^{1a} :ホルミル基 R ^{2a} :p-ヒドロキシ ベンゾイル基	{2-O-(6-デオキシ-4-O- -(4-ヒドロキシベンゾイル)- α -L-マンノシル)- β -D-グ ルコピラノシルオキシ)-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エポキシ -23-ヒドロキシ-22-(2-メチ ル-1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-18-アール-3- イル
	化合物C	R ^{1a} :ホルミル基 R ^{2a} :p-メトキシベ ンゾイル基	{2-O-(6-デオキシ-4-O- -(4-メトキシベンゾイル)- α - L-マンノシル)- β -D-グル コピラノシルオキシ)-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エポキシ -23-ヒドロキシ-22-(2-メチル -1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-18-アール-3-イ ル
	化合物D	R ^{1a} :ヒドロキシメチ ル基 R ^{2a} :p-ヒドロキシ ベンゾイル基	O-6-デオキシ-4-O-(4- ヒドロキシベンゾイル)- α -L- マンノピラノシル-(1fwdarw2)- β - D-グルコピラノシルオキシ-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エ ポキシ-23-ヒドロキシ-18-ヒド ロキシメチル-22-(2-メチル- 1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-3-イル
	化合物E	R ^{1a} :ヒドロキシメチ ル基 R ^{2a} :p-メトキシベ ンゾイル基	O-6-デオキシ-4-O-(4- メトキシベンゾイル)- α -L-マ ンノピラノシル-(1fwdarw2)- β - D-グルコピラノシルオキシ-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エポ キシ-23-ヒドロキシ-18-ヒド ロキシメチル-22-(2-メチル- 1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-3-イル

【0022】

【表2】

一般式(5)	化合物F	R ^{1b} :ホルミル基	O-6-デオキシ- α -L-マンノ ピラノシル-(1fwdarw2)- β -D- グルコピラノシル-(1fwdarw2)- β - D-グルコピラノシルオキシ-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エ ポキシ-23-ヒドロキシ-22-(2- メチル-1-プロペニル)-24- ノルコール-5-エン-18-アール
	化合物G	R ^{1b} :ヒドロキシメチ ル基	O-6-デオキシ- α -L-マンノ ピラノシル-(1fwdarw2)- β -D- グルコピラノシル-(1fwdarw2)- β - D-グルコピラノシルオキシ-3 β , 16 β , 22S, 23R-16, 23-エ ポキシ-23-ヒドロキシ-18-ヒド ロキシメチル-22-(2-メチル- 1-プロペニル)-24-ノルコ ール-5-エン-18-アール

【0023】本発明の新規ステロイド配糖体(1)は例
えばユリ科又はその近縁植物の植物体から溶媒抽出、精
製工程を経て得ることができる。

【0024】ユリ科植物としては、特に制限されない
が、例えば、オルニトガラム・サンデルシアエ(Oni
tyhogalum saundersiae)等が挙

げられる。また、ユリ科の近縁植物としては、例えば、
ドラカエナ属等のリュウゼツラン科、アヤメ科又はカヤ
ツリグサ科等の植物が挙げられる。これらは、市販のも
のを用いることができる。抽出に用いる植物体の部位も
特に制限されないが、ステロイド配糖体が高い濃度で存
在する鱗茎部が好ましい。

【0025】ユリ科又はその近縁の植物体から溶媒抽出する方法も特に制限されないが、植物体をそのまま又は乾燥あるいは細断、粉碎等抽出に好適な形状に加工した後極性溶媒で液液抽出等行えばよい。抽出溶媒としては、極性溶媒が好ましく、例えば、水；メタノールやエタノールなどのアルコール類；ジエチルエーテルやテトラヒドロフラン等のエーテル類；酢酸エチルや酢酸メチル等のエステル類；クロロホルムや塩化メチレン等のハロゲン化炭化水素類；アセトンやメチルエチルケトン等のケトン類；アセトニトリル等のニトリル類が挙げられ、これらを単独もしくは二種以上を混合して用いればよい。このうち好ましい溶媒として、抽出効率、安全性、経済性の点でアルコール類を挙げることが出来る。抽出は、室温でも溶媒の沸点付近の温度まで加熱して行ってもよい。これは、本発明のステロイド配糖体が温度に対して安定であるためである。抽出は、室温ならば数日、加熱下であれば数時間溶媒に浸漬して行えばよく、更に攪拌を加えてもよい。

【0026】ユリ科又はその近縁の植物体から溶媒抽出された抽出物は、公知の方法により精製、単離できる。例えば、水-ブタノールで液液抽出し大まかに夾雑物を取り除いた後、シリカゲル、ODS、イオン交換樹脂等を担体としたカラムクロマトグラフィーで精製すればよい。

【0027】本発明のステロイド配糖体は、優れた抗癌作用を有し、抗癌剤として有用である。本発明抗癌剤の対象となる癌としては、通常の癌であれば特に制限されないが、特に白血病が好ましい。また、本発明のステロイド配糖体は、高い免疫抑制作用を有し、免疫抑制剤として有用である。斯かる免疫抑制剤は従来の免疫抑制剤が用いられる場合と同様に用いることが出来る。例えば、臓器移植に先立って、本発明の免疫抑制剤を投与し、拒絶反応を抑制し移植臓器の定着率を上げるために用いたり、白血病患者に骨髓移植に先立って投与し、病原細胞を除去するために用いたりする事が出来る。また、本発明医薬には有効成分として前記ステロイド配糖体(1)が配合されるが、当該ステロイド配糖体(1)は有効量含まれていればよく、前記ユリ科又はその近縁の植物体の抽出物を用いてもよい。

【0028】本発明の医薬を患者に投与する場合、好ましい投与量は、患者の年齢、体型、体調、癌の種類とステージ、性別等により異なるが、通常、成人一人一日当たり、有効成分として1~1000mg、特に2~100mgを1~数回に分けて投与するのが好ましい。投与経路としては、特段の限定はなく、例えば、経口投与、経直腸投与、注射による投与などが挙げられる。このうち、注射による投与では、例えば、静脈注射、動脈注射、門脈注射、皮下注射、皮内注射、腹腔内注射、病巣内直接注射等が例示できる。注射は、通常の注射でも輸液などに混合して点滴を行ってもよい。

【0029】本発明の医薬は、上記ステロイド配糖体を有効成分として含有するが、それ以外に通常の医薬組成物で用いられている剤形化のための任意成分を任意の配合量で含有することができる。この様な任意成分としては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、乳化・可溶化・分散剤、滑沢剤、コーティング剤、徐放性被膜形成剤、矯味矯臭剤、着色剤、安定剤、等張剤、油脂類、溶媒、リボソーム形成剤等が例示できる。本発明の医薬はこれら任意成分と共に常法に従って製剤化される。

【0030】上記剤形化のための任意成分以外にも、本発明の抗癌剤の場合は、通常癌治療に用いられる医薬品類を更に含有させることもできる。この様な医薬品としては、アドリアマイシン、マイトマイシン、ネオカルチノスタチン、ビンクリスチン、タキソール、5FU等の抗癌剤、モルヒネ等の痛み止め成分、ステロイド剤、リビオドール等の血管栓塞剤等が挙げられる。また、上記剤形化のための任意成分以外にも、本発明の免疫抑制剤の場合は、通常免疫抑制剤を用いる治療に用いられる医薬品類を含有させることもできる。このような医薬品としては、メチシリン、テトラサイクリン、セファロスポリン、セファロスポロール等の抗生物質、シクロフォスファミドやメルカプトプリン等の従来の免疫抑制剤、ステロイド剤等が挙げられる。

【0031】

【発明の効果】本発明のステロイド配糖体は、優れた抗癌作用及び高い免疫抑制作用を有する。更に、ユリ科の多くの植物の鱗茎が広く食用に供されていることから安全性が高い。

【0032】

【実施例】次に本発明を実施例を挙げて更に具体的に説明するが、これらは、単に例示であって本発明を制限するものではない。

【0033】実施例1

製造例

園芸店より購入したオルニトガラム・サンデルシアエ(Onityhogalum saundersiae)の新鮮鱗茎10kgを細かく切り刻んだ後、10lのメタノールで2回、3時間温浸し、濾過により不溶物を取り除いた後に溶媒を除去し、3lのブタノールと3lの水で液液抽出を行い、ブタノール層を得た。溶媒除去し残渣をダイヤイオンHP-20を用いたイオン交換カラムクロマトグラフィー(溶出溶媒；水：メタノール=100:0→0:100、エタノール、酢酸エチル)、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出溶媒；クロロホルム：メタノール：水=19:1:0→7:4:1)、ODSカラムを装着した高速液体クロマトグラフィー(溶出溶媒；水：メタノール=30:70→5:95、水：アセトニトリル=30:70)で順次精製し、精製物1~7を得た。

【0034】(精製物1：収量15mg)この精製物は、

以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Aであることがわかった。

【0035】

【表3】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-60$ 度

FAB-MASS: $[M-H]^-$; 735

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3400、2950、2920

1H -NMR (重ビリジン) ppm: 10.15(1H, s), 6.38(1H, s), 5.31(1H, d), 5.14(1H, d), 5.04(1H, d), 4.80(1H, br s), 4.62(1H, dd), 1.80(3H, s), 1.76(3H, s), 1.71(3H, s), 1.00(3H, d), 0.97(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.5, 30.2, 78.0, 39.0, 141.0, 121.2, 32.2, 33.5, 50.2, 37.0, 22.6, 33.7, 59.3, 52.7, 33.5, 69.9, 59.6, 207.3, 19.4, 31.3, 18.6, 47.6, 98.3, 126.3, 134.3, 26.0, 18.8, 100.5, 79.7, 77.9, 71.9, 78.3, 62.7, 102.1, 72.6, 72.9, 74.2, 69.5, 18.7

【0036】(精製物2: 収量65mg) この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Bであることがわかった。

【0037】

【表4】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-32.8$ 度

FAB-MASS: $[M-H]^-$; 855

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3400、2920、1700、1600

1H -NMR (重ビリジン) ppm: 10.13(1H, s), 8.29(2H, d), 7.16(2H, d), 6.46(1H, br s), 6.14(1H, dd), 5.07(1H, d), 1.81(3H, br s), 1.72(3H, br s), 1.57(3H, d), 1.00(3H, d), 0.95(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.4, 30.0, 78.4, 39.4, 141.0, 121.5, 32.3, 33.6, 50.3, 36.9, 22.6, 33.6, 59.3, 52.7, 33.5, 69.9, 59.6, 207.3, 19.5, 31.3, 18.1, 47.6, 98.3, 126.3, 134.4, 26.1, 18.9, 100.8, 79.7, 77.3, 71.8, 78.4, 62.7, 101.6, 72.7, 70.6, 76.4, 67.1, 18.7, 122.0, 132.6, 116.1, 163.6, 166.7

【0038】(精製物3: 収量65.2mg) この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Cであることがわかった。

【0039】

【表5】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-4.0$ 度

FAB-MASS: $[M]^-$; 870

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3425、2950、1710、1695

1H -NMR (重ビリジン) ppm: 10.15(1H, s), 8.27(2H, d), 7.01(2H, d), 6.45(1H, br s), 6.13(1H, dd), 5.48(1H, br s), 5.15(1H, d), 5.08(1H, d), 5.02(1H, overlapping to H_2O peak), 1.81(3H, br s), 1.72(3H, br s), 1.56(3H, d), 1.01(3H, d), 0.97(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.2, 30.3, 78.3, 3

9.3, 141.0, 121.4, 32.3, 33.6, 50.1, 37.0, 22.5, 33.8, 59.2, 52.5, 33.4, 69.9, 59.5, 207.3, 19.6, 31.2, 18.0, 47.6, 98.3, 126.2, 134.4, 26.0, 18.8, 100.7, 79.6, 77.3, 71.7, 78.1, 62.6, 101.6, 72.6, 70.5, 76.5, 67.0, 18.6, 123.5, 132.2, 114.1, 163.8, 166.4, 55.5

【0040】(精製物4: 収量20.8mg) この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Dであることがわかった。

【0041】

【表6】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-20.0$ 度

FAB-MASS: $[M]^-$; 858

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3425、2950、2920、2870、1690

1H -NMR (重ビリジン) ppm: 8.31(2H, d), 7.17(2H, d), 6.46(1H, br s), 6.15(1H, dd), 5.49(1H, br s), 5.29(1H, d), 5.07(1H, d), 5.02(1H, overlapping to H_2O peak), 1.87(3H, br s), 1.73(3H, br s), 1.57(3H, d), 1.28(3H, d), 1.03(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.5, 30.5, 78.5, 39.4, 141.0, 122.0, 32.8, 31.8, 50.7, 37.1, 21.4, 35.2, 46.8, 53.3, 33.8, 70.7, 60.6, 60.4, 19.4, 31.5, 18.1, 48.2, 98.7, 127.3, 133.5, 26.1, 19.5, 100.7, 79.6, 77.3, 71.8, 78.3, 62.6, 101.6, 72.6, 70.5, 76.3, 67.0, 18.9, 121.9, 132.6, 116.1, 163.5, 166.7

【0042】(精製物5: 収量76.3mg) この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Eであることがわかった。

【0043】

【表7】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-16.0$ 度

FAB-MASS: $[M]^-$; 872

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3425、2925、2850、1695

1H -NMR (重ビリジン) ppm: 8.27(2H, s), 6.99(2H, d), 6.44(1H, br s), 6.13(1H, dd), 5.53(1H, br s), 5.20(1H, d), 5.06(1H, d), 4.88(1H, d), 1.87(3H, br s), 1.74(3H, br s), 1.56(3H, d), 1.28(3H, d), 1.03(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 30.5, 78.6, 39.6, 141.1, 122.0, 32.8, 31.9, 50.6, 37.2, 21.4, 35.2, 46.8, 53.2, 33.9, 70.6, 60.6, 60.4, 19.4, 31.5, 18.1, 48.2, 98.7, 127.3, 133.5, 26.1, 19.5, 100.9, 79.6, 77.4, 71.8, 78.3, 62.6, 101.6, 72.5, 70.5, 76.7, 66.9, 18.9, 123.5, 132.3, 114.1, 163.7, 166.4, 55.4

【0044】(精製物6: 収量190mg) この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Fであることがわかった。

【0045】

【表8】性状：白色粉末 $[\alpha]_D^{26}-49.6$ 度

FAB-MASS: $[M-H]^-$; 897

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3400、2920、1700

^1H -NMR (重ビリジン) ppm: 10.12(1H, s), 6.37(1H, br s), 5.85(1H, d), 5.37(1H, br d), 5.13(2H, d), 4.99(1H, m), 4.92(1H, br d), 4.76(1H, br s), 4.70(1H, dd), 4.50(1H, dd), 4.43(1H, dd), 4.25(1H, dd), 4.16(2H, d), 3.95(1H, m), 2.85(1H, br d), 2.69(1H, br d), 2.58(1H, m), 2.11(1H, br d), 1.80(3H, br s), 1.71(3H, br s), 1.65(3H, br d), 1.04(1H, m), 0.99(3H, d), 0.82(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.5, 78.8, 39.4, 141.3, 121.0, 32.1, 33.5, 50.2, 36.9, 22.6, 33.6, 59.3, 52.7, 33.5, 69.9, 59.6, 207.3, 19.4, 31.3, 18.6, 47.6, 98.3, 126.3, 134.3, 26.0, 19.0, 101.2, 80.7, 79.2, 71.7, 78.1, 62.8, 102.1, 78.7, 79.3, 72.3, 72.6, 74.4, 69.8, 18.8

【0046】(精製物7:収量20.8mg)この精製物は、以下の方法で分析を行ったところ、前記化合物Gであることがわかった。

【0047】

【表9】性状: 白色粉末 $[\alpha]_D^{26}$ -48.0度

FAB-MASS: $[\text{M}]^-$; 900

IR (KBr錠剤) cm^{-1} : 3400、2920

^1H -NMR (重ビリジン) ppm: 6.39(1H, s), 5.88(1H, d), 5.41(1H, d), 5.29(1H, d), 5.15(1H, d), 5.07(1H, d), 4.76(1H, br s), 4.70(1H, br d), 4.00(1H, m), 1.85(3H, d), 1.82(3H, d), 1.73(3H, s), 1.27(3H, d), 0.87(3H, s)

^{13}C -NMR (重ビリジン) ppm: 37.6, 30.1, 78.8, 39.4, 141.3, 121.5, 32.7, 31.7, 50.7, 37.1, 21.4, 35.2, 46.8, 53.3, 33.8, 70.7, 60.6, 60.5, 19.4, 101.1, 80.7, 79.1, 71.8, 78.1, 62.8, 102.3, 78.7, 79.3, 72.3, 77.1, 63.0, 102.0, 72.3, 77.1, 63.0, 102.0, 72.3, 72.6, 74.4, 69.8, 18.9

【0048】実施例2

急性毒性

化合物A~Gの急性毒性を1群5匹のICR雄性マウスを用いて調べた。即ち、各化合物を2mg/匹腹腔内投与し、14日後に生死を判定した。その後動物を屠殺し、解剖し各臓器の異常の有無を調べた。結果は14日目に於ける死亡例はなく、剖検結果も異常を認めなかった。これより本発明のステロイド配糖体は、安全性に優れることが判る。

【0049】実施例3

抗癌作用

白血病細胞HL-60を用いて抗癌作用を検討した。即ち、10%FBS含有MEMで前培養したHL-60細胞を 10^6 個培養皿に入れ、これに各種濃度で薬物を含有するように調整した10%FBS含有MEMを加え、2時間5%炭酸ガス混合ガス気流下、37℃で2時間インキュベートした。その後、10%FBS含有MEMで

2回洗浄した後7日間この培地で混合ガス気流下培養し、生きている細胞を染色し、50%の細胞が死滅する濃度(IC₅₀値)を求めた。結果を表10に示す。尚、ポジティブコントロールにはエトポシドを用いた。本発明のステロイド配糖体は優れた抗癌作用を有していることが判る。

【0050】

【表10】

ステロイド配糖体	IC ₅₀ (μM)
化合物A	4.4
化合物B	0.021
化合物C	0.042
化合物D	0.021
化合物E	0.042
化合物F	0.168
化合物G	10
エトポシド	0.25

【0051】実施例4

免疫抑制作用

CD4レセプターを有するT細胞由来の培養細胞MOLT-4細胞を用いて免疫抑制作用を検討した。即ち、10%FBS含有MEMで前培養したMOLT-4細胞を 10^6 個培養皿に入れ、これに各種濃度で薬物を含有するように調整した10%FBS含有MEMを加え2時間5%炭酸ガス混合ガス気流下37℃で2時間インキュベートした。その後、10%FBS含有MEMで2回洗浄した後7日間この培地で混合ガス気流下培養し、生きている細胞を染色し、50%の細胞が死滅する濃度(IC₅₀値)を求めた。結果を表11に示す。尚、ポジティブコントロールにはメトトレキサートを用いた。本発明のステロイド配糖体は優れた免疫抑制作用を有していることが判る。

【0052】

【表11】

化合物	IC ₅₀ (μM)
化合物A	3.9
化合物B	0.018
化合物C	0.032
化合物D	0.032
化合物E	0.032
化合物F	0.032
化合物G	10
メトトレキサート	0.048

【0053】実施例5

免疫抑制作用

ヒト末梢血リンパ球を用いて免疫抑制作用を検討した。即ち、ヒトから採血した末梢血にEDTAを添加した後、モノポリ分離液に重層させ延伸分離しリンパ球を得た。このリンパ球を10%FBS含有MEMで前培養した後、 10^6 個培養皿に入れ、これに各種濃度で薬物を含有するように調整した10%FBS含有MEMを加え2時間5%炭酸ガス混合ガス気流下37℃で2時間インキュベートした。その後、10%FBS含有MEMで2回洗浄した後7日間この培地で混合ガス気流下培養し、生きている細胞を染色し、50%の細胞が死滅する濃度(IC_{50} 値)を求めた。結果を表12に示す。尚、ポジ

ティブコントロールにはメトトレキセートを用いた。本発明のステロイド配糖体は優れた免疫抑制作用を有していることが判る。

【0054】

【表12】

化 合 物	IC_{50} (μM)
化合物A	0.07
化合物B	0.0062
化合物C	10
メトトレキセート	0.0025

フロントページの続き

(72)発明者 岡 希太郎
東京都大田区東矢口3丁目19番8号
(72)発明者 平野 俊彦
神奈川県津久井郡相模湖町若柳633-7
(72)発明者 三巻 祥浩
東京都八王子市めじろ台2-8-5-205

(72)発明者 黒田 明平
東京都練馬区南田中3-31-6-209
(72)発明者 藤井 昭男
神奈川県横浜市神奈川区高島台27-1 ポ
ーラ化成工業株式会社横浜研究所内
(72)発明者 宮田 善之
神奈川県横浜市神奈川区高島台27-1 ポ
ーラ化成工業株式会社横浜研究所内

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication 09-040690
n number :

(43)Date of 10.02.1997
publication of
application :

(51)Int.Cl. C07J 71/00
A61K 31/70
A61K 31/70
// A61K 35/78

(21)Applicati 08-107254
on number :

(71)Applicant SASHITA YUTAKA
: OKA KITAROU
POLA CHEM IND INC

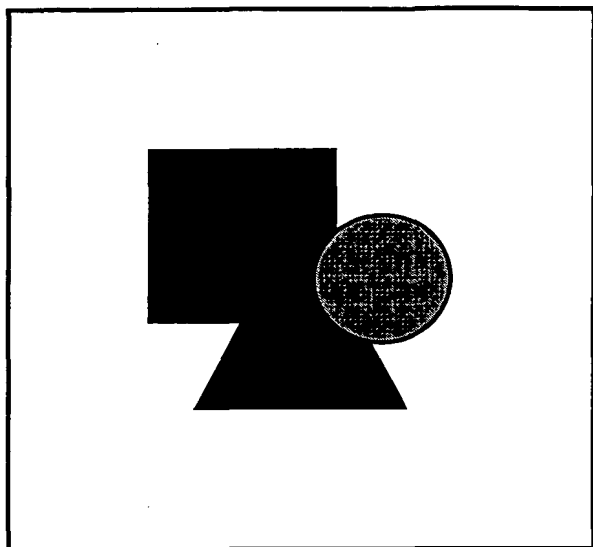
(22)Date of 26.04.1996
filing :

(72)Inventor : SASHITA YUTAKA
OKA KITAROU
HIRANO TOSHIHIKO
MIMAKI YOSHIHIRO
KURODA AKIHIRA
FUJII AKIO
MIYATA YOSHIYUKI

(30)Priority

Priority number : 07123759 Priority date : 23.05.1995 Priority country : JP
07123760 23.05.1995 JP

(54) STEROID GLYCOSIDE AND MEDICINE CONTAINING THE SAME AS ACTIVE
INGREDIENT



(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new steroid glycoside, available from a plant of the family Liliaceae *Onityhogalum saundersiae*, etc., by extraction with a solvent, having excellent anticancer and immunosuppressing actions and high safety and useful as an anticancer agent, an immunosuppressant, etc.

SOLUTION: This new steroid glycoside of formula I [R1 is formyl or a hydroxyalkyl of a short chain length; R2a is a saccharide residue such as formula II (R" is H, p-hydroxybenzoyl or p-methoxybenzoyl) which may have an acyl group. The glycoside has excellent anticancer and immunosuppressing actions and high safety and is useful as an anticancer agent, an immunosuppressant, etc. The compound is obtained by chopping a fresh bulb of a plant of the family *Onityhogalum saundersiae*, then digesting the resultant chopped bulb with methanol, removing insoluble substances by filtration, carrying out the liquid-liquid extraction with butanol and water, collecting a butanol layer, removing the solvent and purifying the residue according to the ion exchange column chromatography, silica gel column chromatography and high-performance liquid chromatography.

LEGAL STATUS


[Date of request for examination]

18.12.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]



[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

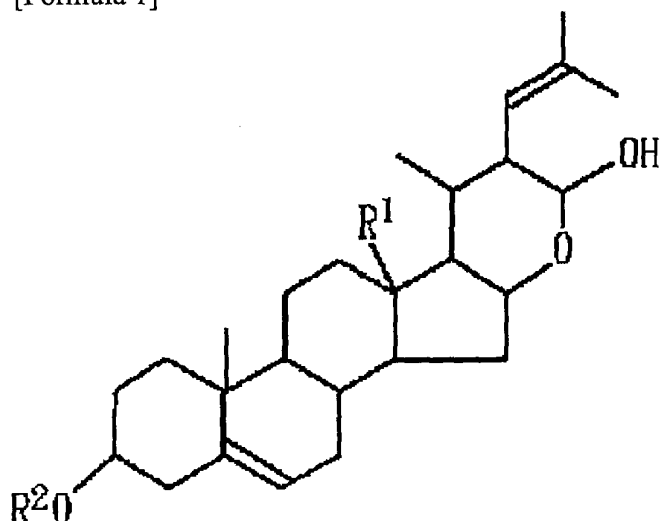
1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The following general formula (1)

[Formula 1]

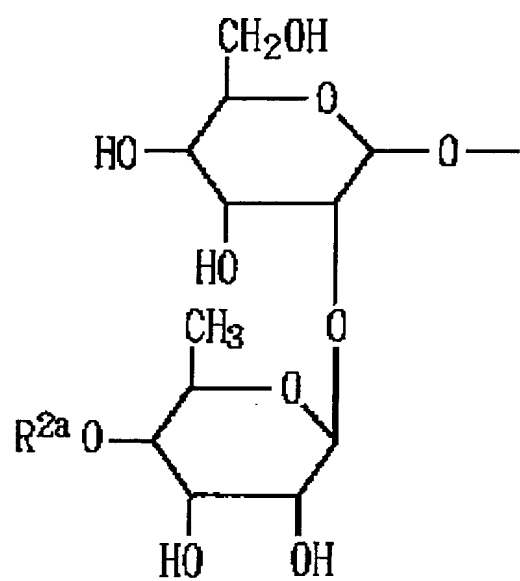


(-- R1 shows a HORUMIRU machine or a low chain-length hydroxyalkyl machine among a formula, and R2 shows the sugar residue which may have the acyl group Steroid glycoside expressed with).

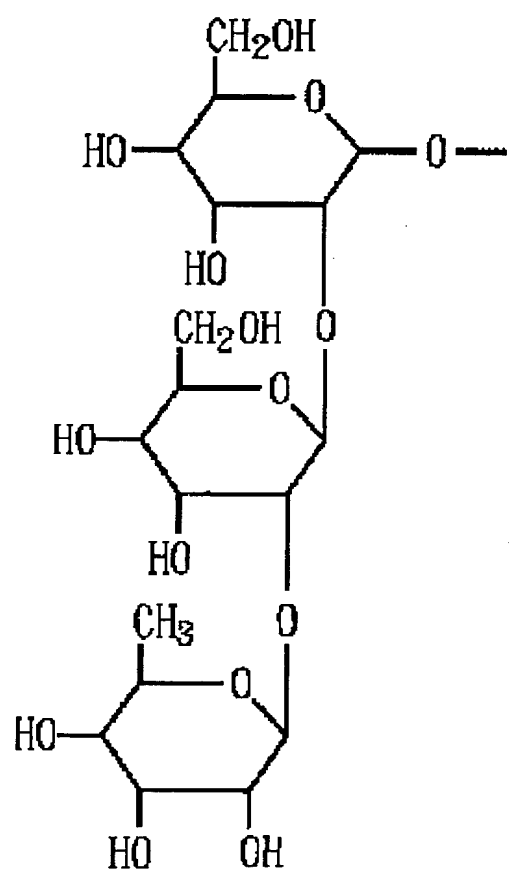
[Claim 2] The inside of a general formula (1), and R1 It is a HORUMIRU machine or a hydroxymethyl group, and is R2. Steroid glycoside according to claim 1 which is the disaccharide residue or trisaccharide residue which may have the acyl group.

[Claim 3] the inside of a general formula (1), and R1 a HORUMIRU machine or a hydroxymethyl group -- it is -- R2 the following formula (2) -- or (3) --

[Formula 2]



(2)

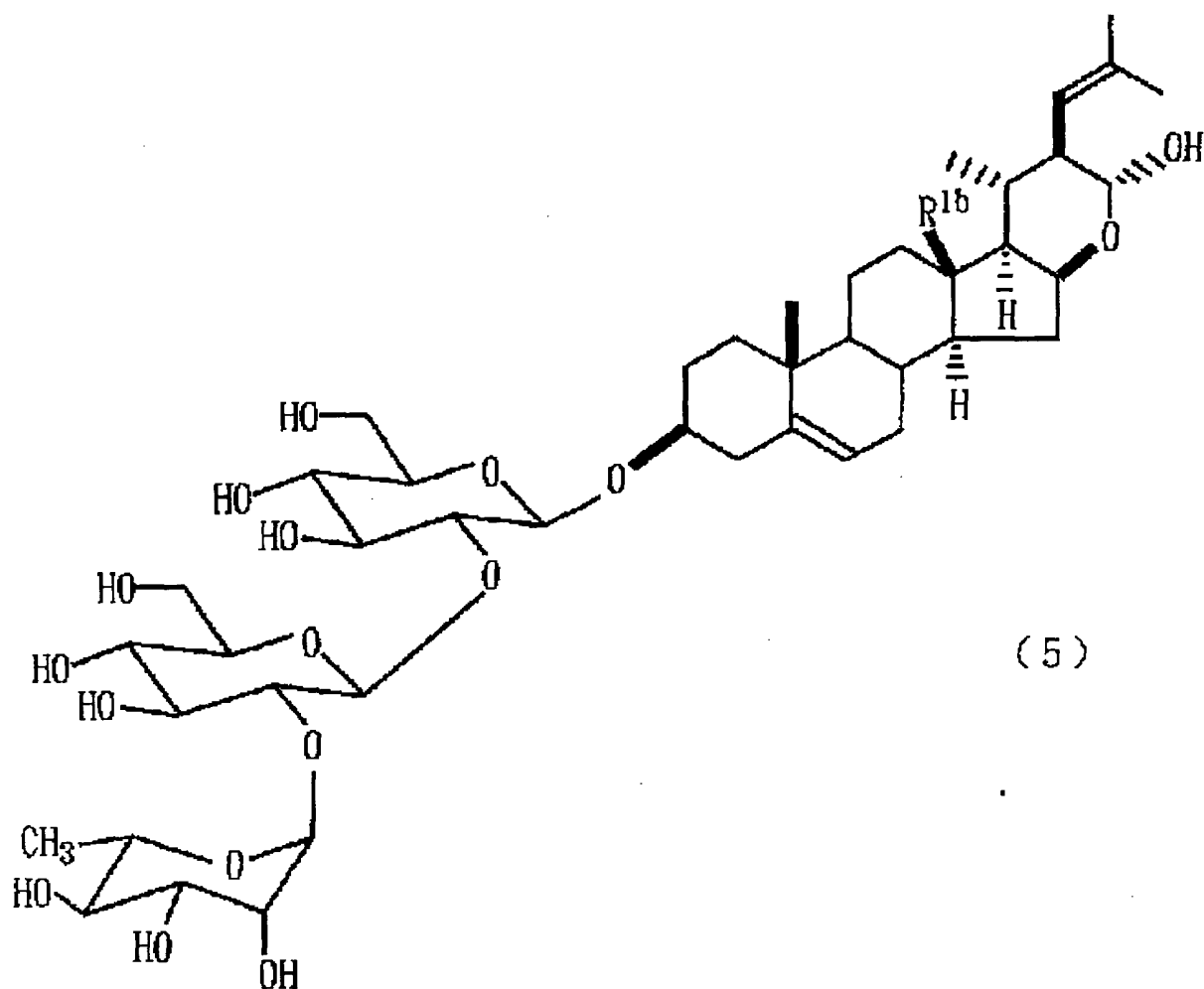


(3)

[Formula 3]



(R1a shows a HORUMIRU machine or a hydroxymethyl group among a formula, and R2a shows a hydrogen atom, a p-hydroxy benzoyl, or p-methoxy benzoyl.) Or a general formula (5) [Formula 4]



(-- R1b shows a HORUMIRU machine or a hydroxymethyl group among a formula Steroid glycoside according to claim 1 which is the compound expressed with).

[Claim 5] Medicine which makes an active principle a steroid glycoside given [of the claims 1-4 / one] in a term.

[Claim 6] Medicine according to claim 5 which is an anticancer agent.

[Claim 7] Medicine according to claim 5 which is an immunosuppresant.

[Translation done.]